

DOCUMENT 12

Japanese Patent Public Disclosure No. 2002-291465

WPI Acc No: 2003-472172/200345

Novel mutated *Saccharomyces cerevisiae* MY-2142 for alcohol production, has sensitivity to analog of branched chain amino acid, stores low amounts of cetyl and suppresses cetyl smell when refined sake of yeast is stored

Patent Assignee: MIYAGI-KEN (MIYA-N); MIYAGIKEN SHUZO KYODO KUMIAI (MIYA-N)

Number of Countries: 001 Number of Patents: 001

Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applicant No	Kind	Date	Week
JP 2002291465	A	20021008	JP 2001100845	A	20010330	200345 B

Priority Applications (No Type Date): JP 2001100845 A 20010330

Patent Details:

Patent No	Kind	Lan Pg	Main IPC	Filing Notes
JP 2002291465	A	6	C12N-001/16	

Abstract (Basic): JP 2002291465 A

NOVELTY – A mutated yeast (I) belonging to *Saccharomyces cerevisiae* MY-2142 for alcohol production, has sensitivity to structural analog of branched chain amino acids, e.g. propargyl glycine, accumulates low amounts of cetyl, and suppresses cetyl smell (an off-flavor in fermented liquors) when refined sake of the yeast is stored, where vicinal diketones and alpha-aceto hydroxy acids are the precursors of cetyl.

DETAILED DESCRIPTION – An INDEPENDENT CLAIM is included for breeding (I) by mutating the yeast, cultivating the yeast in a culture medium containing a branched chain amino acid analog such as propargyl glycine, alpha-aminobutyric acid, 4-aza leucine, 5,5,5-trifluoro leucine, O-methyl threonine or an isoleucine hydroxamate, separating the desired branched chain amino acid analog sensitive mutant in which propagation is inhibited, and isolating the yeast having low cetyl accumulation property from the sensitive mutant.

USE – For manufacturing alcohol.

ADVANTAGE – (I) controls the generation of cetyl smell easily, and improves the quality of low alcohol concentration refined sake.

pp; 6 DwgNo 0/0

Derwent Class: D16; E16

International Patent Class (Main): C12N-001/16

International Patent Class (Additional): C12G-003/02; C12N-001/02;
C12R-001-865; C12N-001/16

Document 12

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開2002-291465

(P2002-291465A)

(43)公開日 平成14年10月8日 (2002.10.8)

(51) Int.Cl.⁷
C 12 N 1/16
C 12 G 3/02
C 12 N 1/02
// (C 12 N 1/16)

識別記号

F I
C 12 N 1/16
C 12 G 3/02
C 12 N 1/02
1/16

テマコト^{*}(参考)
G 4 B 0 6 5
D

審査請求 未請求 請求項の数 4 O.L. (全 6 頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2001-100845(P2001-100845)

(71)出願人 591074736

宮城県

宮城県仙台市青葉区本町3丁目8番1号

(22)出願日 平成13年3月30日 (2001.3.30)

(71)出願人 501067090

宮城県酒造協同組合

宮城県仙台市青葉区上杉2丁目3番1号

(72)発明者 今野 政憲

宮城県仙台市泉区明通2丁目2番地 宮城
県産業技術総合センター内

(74)代理人 100080698

弁理士 小田 治親

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 新規変異酵母およびその用途

(57)【要約】

【課題】ダイアセチル臭の発生を抑制することのできる
変異酵母を得る。

【解決手段】分岐鎖アミノ酸類のアナログ（構造類似
体）に対する感受性を有し、且つトータル・ダイアセチ
ル（ビナルジケトン類及びその前駆物質である α -ア
セトハイドロキシ酸類の総称）低蓄積性の清酒酵母、ビ
ール酵母、ワイン酵母を含む新規変異酵母の構成であ
り、酒類製造用酵母を変異処理し、プロバルジルグリシ
ン又は α -アミノ酪酸又は4-アザロイシン又は5-
5, 5-トリフルオロロイシン又はO-メチルトレオニ
ン又はイソロイシンヒドロキサメートを含む培地で、親
として用いた変異処理前の酵母に比し、増殖の抑制或い
は遅延が見られる分岐鎖アミノ酸アナログ感受性変異株
を分離し、更に感受性変異株からトータル・ダイアセチ
ル低蓄積性酵母を分離する構成である。

1

2

【特許請求の範囲】

【請求項1】分岐鎖アミノ酸類のアナログ（構造類似体）に対する感受性を有し、且つトータル・ダイアセチル（ビシナルジケトン類及びその前駆物質である α -アセトハイドロキシ酸類の総称）低蓄積性の清酒酵母、ビール酵母、ワイン酵母を含む酒類製造用酵母に属する新規変異酵母。

【請求項2】酒類製造用酵母を変異処理し、プロバルジルグリシン又は α -アミノ酪酸又は4-アザロイシン又は5, 5, 5-トリフルオロロイシン又はO-メチルトレオニン又はイソロイシンヒドロキサメートを含む培地で、親として用いた変異処理前の酵母に比して、増殖の抑制或いは遅延が見られる分岐鎖アミノ酸アナログ感受性変異株を分離し、更に感受性変異株からトータル・ダイアセチル低蓄積性酵母を分離することを特徴とする新規変異酵母の育種方法。

【請求項3】サッカロマイセス・セレビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*) に属する清酒酵母を変異処理し、プロバルジルグリシン感受性を有し、且つトータル・ダイアセチル低蓄積性であることを特徴とする変異酵母MY-2142。

【請求項4】請求項1或いは請求項3記載の新規変異酵母を用いることを特徴とする酒類の製造方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、酒類製造に関する新規変異酵母、その変異酵母の新規育種方法及びその酵母を用いた酒類の製造方法に関する。さらに詳細には、本発明は、トータル・ダイアセチルの蓄積を低減する酒類製造用酵母に属する変異酵母、その変異酵母の育種方法及びその酵母を用いた酒類、特に清酒の製造方法に関する。

【0002】

【従来の技術】酒類の香気成分の内、ダイアセチル臭はとりわけ清酒、ビール及びワイン等の醸造酒における代表的オフフレーバーのひとつである。ダイアセチル臭（清酒の官能表現ではツワリ香とも云う）は、ダイアセチルを主体としたビシナルジケトン類が製品中に閾値以上存在することによって発生する。清酒における閾値は1 ppm（日本醸造協会雑誌, 57, 607 (1962)）、ビールにおける閾値は0.1 ppm（ジャーナル・オブ・ジ・インスティチュート・オブ・ブリューイング (Journal of the Institute of Brewing), 76, 486 (190)）と言われている。

【0003】酒類中のビシナルジケトン類はダイアセチルと2, 3-ペントンジオンに大別される。ダイアセチルと2, 3-ペントンジオンは、それぞれバリン及びイソロイシン合成系中間産物 α -アセトハイドロキシ酸である α -アセト乳酸及び α -アセトハイドロキシ酪酸を前駆体として、酵母の関与しない自動酸化によって生

10

20

30

40

50

成される。また、ダイアセチルの一部は、酵母が α -アセト乳酸からアセトインを経て生成される。この他に汚染微生物によってもダイアセチルは生成される。

【0004】以上のことから、ビシナルジケトン類（ダイアセチル及び2, 3-ペントンジオン）及びその前駆体で α -アセトハイドロキシ酸類（ α -アセト乳酸及び α -アセトハイドロキシ酪酸）全体が製品にダイアセチル臭をもたらす可能性のあるものとして捉えられる。それらトータル・ダイアセチルを安定的に低減させる酵母の育種は酒類の製造管理を容易にするばかりでなく、新商品開発の可能性を広げることができる。

【0005】ビール製造用酵母に対しては、ダイアセチル臭の発生を抑制する試みが報告されている。アメリカン・ソサイアティ・オブ・ブリューイング・ケミスト、ブロシーディング (American Society of Brewing Chemists, Proceeding), 94 (1973) には、パリン・ロイシン・イソロイシン要求性酵母が、第21回ヨーロピアン・ブリュワリー・コンベンション、ブロシーディング・コングレス、マドリッド (21th European Brewery Convention, Proceeding Congress, Madrid), 553 (1987) にはILV5遺伝子のコピー数を増大させた遺伝子操作酵母がそれぞれ報告されているが、実用化には至っていない。特開昭62-228282号公報、特開平2-265488号公報及び特開平7-171号公報にはいずれも α -アセト乳酸脱炭酸酵素をコードするDNA鎖を用いた形質転換酵母が報告されており、実用性も認められているが、少なくとも国内では実用化されていない。ビール製造用酵母以外でも、清酒製造用酵母及びワイン製造用酵母を含めてダイアセチル臭の発生を抑制することを目的として育種された酵母の実用例は見られない。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】本発明の課題は、ダイアセチル臭の発生を抑制することのできる変異酵母を得ることである。

【0007】

【課題を解決するための手段】本発明者らの研究の結果、従来の酵母に比べトータル・ダイアセチルの蓄積が安定して低減される変異酵母を分離できる育種方法を開発し、この方法で得られた変異酵母の使用により、ダイアセチル臭の発生が安定的に抑制された酒類の製造に成功したものである。前記本発明の課題は、分岐鎖アミノ酸類のアナログ（構造類似体）に対する感受性を有し、且つトータル・ダイアセチル（ビシナルジケトン類及びその前駆物質である α -アセトハイドロキシ酸類の総称）低蓄積性の清酒酵母、ビール酵母、ワイン酵母を含む酒類製造用酵母に属する新規変異酵母を利用して解決することができる。本発明の新規変異酵母は、酒類製造用酵母を変異処理し、プロバルジルグリシン又は α -アミノ酪酸又は4-アザロイシン又は5, 5, 5-トリフ

ルオロロイシン又はO-メチルトレオニン又はイソロイシンヒドロキサメートを含む培地で、親として用いた変異処理前の酵母に比して、増殖の抑制或いは遅延が見られる分岐鎖アミノ酸アナログ感受性変異株を分離し、更に感受性変異株からトータル・ダイアセチル低蓄積性酵母を分離することによって育種できる。

【0008】すなわち、本発明は、ダイアセチル臭の原因物質であるビナルジケトン類が主に酵母のパリン・ロイシン・イソロイシンのいわゆる分岐鎖アミノ酸生合成経路の中間産物である α -アセトハイドロキシ酸類に由来することに着目し、分岐鎖アミノ酸アナログに対する感受性が従来の酵母に比べて強くなっている酵母では分岐鎖アミノ酸の生合成系及び／又は取り込み系に何らかの変異を生じている可能性が高いことから、分岐鎖アミノ酸アナログ感受性酵母を分離するという方法を新規に開発し、目的とする変異酵母を効率的に分離することに成功した。

【0009】突然変異酵母としては、自然発生的に生じた突然変異株のほか、紫外線や放射線を照射する物理的変異誘導原を用いる物理的手法或いはエチルメタンサルフォネート、N-メチル-N-ニトロ-N-ニトロソグアニジン、亜硝酸などの化学的変異誘導剤に接触させる化学的手法による人為的突然変異株など、いかなる方法によって得たものでもよい。

【0010】変異処理をする場合に親株として用いる酵母は、酒類製造用酵母であればよく、清酒酵母、ビール酵母、ワイン酵母などいずれの酵母でもトータル・ダイアセチルの蓄積が安定して低減される変異酵母を取得できる。

【0011】分岐鎖アミノ酸アナログとしてはプロバルジルグリシン、 α -アミノ酪酸、4-アザロイシン、5, 5, 5-トリフルオロロイシン、O-メチルトレオニン及びイソロイシンヒドロキサメートが利用できるが、その他の分岐鎖アミノ酸アナログでも、少なからず酵母の増殖を抑制或いは阻害するものであれば適宜利用可能である。

【0012】分岐鎖アミノ酸アナログ感受性酵母を分離・育種する方法は、酒類製造用酵母をそのまま或いはそれを変異処理した酵母を、親株において増殖が完全に阻害されない濃度の分岐鎖アミノ酸アナログを含む培地中で培養し、増殖しない或いは親株に比して増殖の遅い分岐鎖アミノ酸アナログ感受性酵母を分離し、さらに分岐鎖アミノ酸アナログ感受性酵母の中からトータル・ダイアセチル低蓄積性変異酵母を分離するものである。

【0013】具体的には、酒類製造用酵母をそのまま又はそれを変異処理した後、分岐鎖アミノ酸アナログを含まない固体培地に接種し、30°Cで約2日間培養し、コロニーを形成させる。次に、分岐鎖アミノ酸アナログを含む寒天平板最少培地(Yeast Nitrogen Base without amino acids (Difco社製) 0.67%、グルコース2%、pH 4.5)に一部を接種し、30°Cで振とう培養する。培養菌体は窒素欠損最少培地(Yeast Carbon Base (Difco社製) 1.17%、pH 5.5)に全量を移植し30°Cで窒素飢餓培養する。窒素飢餓菌体は分岐鎖アミノ酸アナログを含む液体最少培地に一部を接種し、30°Cで振とう培養する。この培養液にナイスタチンを最終濃度で10 ppmとなるように添加し、30°Cで振とうしながら、ナイスタチン処理を行う。

%、寒天2%、pH 6.0)を調製し、これにレブリカして、30°Cで培養する。日本醸造協会清酒用7号酵母を用いる場合の各分岐鎖アミノ酸アナログの添加濃度の目安と、それぞれの培養日数の目安は以下の通りである。DL-プロバルジルグリシンを用いる場合は10 μM以下の濃度で、2乃至3日間の培養を目安とする。L- α -アミノ-n-酪酸を用いる場合は250 μM以下の濃度で、グルコースの代わりにグリセロールを炭素源とし、5乃至6日間の培養を目安とする。4-アザ-DL-ロイシンを用いる場合は10 mM以下の濃度で、3乃至4日間の培養を目安とする。

【0014】5, 5, 5-トリフルオロ-DL-ロイシンを用いる場合は75 μM以下の濃度で、3乃至4日間の培養を目安とする。O-メチル-L-トレオニンを用いる場合は100 μM以下の濃度で、グルコースの代わりにグリセロールを炭素源とし、5乃至6日間の培養を目安とする。L-イソロイシンヒドロキサメートを用いる場合は500 μM以下の濃度で、グルコースの代わりにグリセロールを炭素源とし、5乃至6日間の培養を目安とする。いずれの分岐鎖アミノ酸アナログを用いる場合においても、添加の目安として示した濃度以下でのできるだけ低い濃度の培地において生育阻害が認められる変異酵母の方がより分岐鎖アミノ酸アナログ感受性の強いものである可能性が高い。また各分岐鎖アミノ酸アナログの添加濃度は親株として使用する酒類製造用酵母によって、多少の加減を要するものである。

【0015】分岐鎖アミノ酸アナログを含む寒天平板最少培地における、分岐鎖アミノ酸アナログ感受性酵母の出現頻度を向上させる場合には、ナイスタチン濃縮法(ネイチャー(Nature), 211, 206 (1966))を用いる。すなわち、酒類製造用酵母をそのまま又はそれを変異処理した後、分岐鎖アミノ酸アナログを含まない固体培地に接種する前にナイスタチン処理を行う。

【0016】具体的には、酒類製造用酵母をそのまま又はそれを変異処理した後、液体最少培地(Yeast Nitrogen Base without amino acids (Difco社製) 0.67%、グルコース2%、pH 4.5)に一部を接種し、30°Cで振とう培養する。培養菌体は窒素欠損最少培地(Yeast Carbon Base (Difco社製) 1.17%、pH 5.5)に全量を移植し30°Cで窒素飢餓培養する。窒素飢餓菌体は分岐鎖アミノ酸アナログを含む液体最少培地に一部を接種し、30°Cで振とう培養する。この培養液にナイスタチンを最終濃度で10 ppmとなるように添加し、30°Cで振とうしながら、ナイスタチン処理を行う。

【0017】すなわち、ナイスタチン処理を行う液体最少培地に含まれる分岐鎖アミノ酸アナログの濃度は、わずかな増殖遅延が認められる程度に設定しておき、その濃度において増殖の早いものをナイスタチンで淘汰することにより分岐鎖アミノ酸アナログ感受性株を濃縮して

いくものである。日本醸造協会清酒用7号酵母を用いる場合の各分岐鎖アミノ酸アナログの添加濃度は、DL-プロパルジルグリシンが100～250μM、L- α -アミノ- α -酪酸が100～1000mM、4-アザ-DL-ロイシンが1～10mM、5, 5, 5-トリフルオロー-DL-ロイシンが100～250μM、O-メチル-L-トレオニンが5～50mM、L-イソロイシンヒドロキサメートが10～100mMを目安とする。分岐鎖アミノ酸アナログの添加濃度は親株として使用する酒類製造用酵母によって、多少の加減を要するものである。

【0018】次に、これら分岐鎖アミノ酸アナログ感受性変異酵母を液体培地に接種し、適宜培養した後、培養液上清中のトータル・ダイアセチルを定量することにより、目的とする分岐鎖アミノ酸アナログ感受性であり、且つトータル・ダイアセチル低蓄積性の変異酵母が取得できる。

【0019】このようにして得られるトータル・ダイアセチル低蓄積性酵母としては、サッカロマイセス・セレビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*) MY-2142株を例示する。この変異酵母は日本醸造協会清酒用7号酵母を親株として、エチルメタンサルフォネートによる突然変異処理により得られたプロパルジルグリシン感受性変異株である。MY-2142株は工業技術院生命工学工業技術研究所に受託番号FERM P-18122として寄託している。

【0020】この分離・育種方法によって得られるトータル・ダイアセチル低蓄積性酵母は、清酒、ビール、ワインを含む各種酒類の一般的な製造方法に用いることが可能である。とりわけ、ダイアセチル臭の発生が散見される低アルコール濃度清酒の製造にトータル・ダイアセチル低蓄積性酵母を用いることで、ダイアセチル臭の発生を容易に防ぐことが可能となるばかりでなく、低アルコール濃度清酒の品質を容易に多様化することができる。

【0021】

【実施例1】日本醸造協会清酒用7号酵母をYPD培地(酵母エキス1%、ペプトン2%、グルコース2%)10mLに植菌し、30°Cで24時間振とう培養した後、無菌的に集菌及び滅菌水洗浄した。この変異処理前洗浄菌体を0.2Mリン酸緩衝液(pH8.0)に懸濁し、菌濃度を 1.0×10^8 cells/mLに調製した。リン酸緩衝液菌体懸濁液2mLに40%グルコース水溶液0.5mL、0.2Mリン酸緩衝液(pH8.0)7.5mL、エチルメタンサルフォネート0.3mLを加え、30°Cで45分間緩やかに振とうしながら変異処理を行った。変異処理後の菌体をチオ硫酸ナトリウム水溶液10mLで1回と滅菌水10mLで2回洗浄した後、最少液体培地10mLに懸濁した。

【0022】液体最少培地菌体懸濁液0.2mLを液体

最少培地9.8mLに加え、30°Cで24時間振とう培養した後、無菌的に集菌及び滅菌水洗浄した。変異処理後洗浄菌体を窒素欠損最少培地10mLに懸濁し、30°Cで6時間窒素飢餓培養した。窒素飢餓培養菌体を無菌的に集菌及び滅菌水洗浄した後、DL-プロパルジルグリシン250μMを含む液体最少培地に懸濁し、菌濃度を 1.0×10^7 cells/mLに調製した。DL-プロパルジルグリシン含有液体最少培地菌体懸濁液9mLを30°Cで4時間振とう培養した後、100ppmナイスタチン溶液(1,000ppmのナイスタチンを含む95%エタノール溶液を滅菌水で10倍に希釈したもの)1mL添加して、さらに30°Cで1時間振とうしながら、ナイスタチン処理を行った。このDL-プロパルジルグリシン含有液体最少培地培養とナイスタチン処理を合計3回繰り返した。

【0023】3回目のナイスタチン処理を終えた菌体を無菌的に集菌及び滅菌水洗浄した後、滅菌水で適宜希釈してから寒天平板最少培地に塗沫し、30°Cで2日培養したものをマスター・プレートとした。マスター・プレート上のコロニーを寒天平板最少培地と10μM DL-プロパルジルグリシン含有寒天平板最少培地にレプリカし、30°Cで3日間培養した。寒天平板最少培地においては親株並みの増殖を示すが、10μM DL-プロパルジルグリシン含有寒天平板最少培地においては増殖のできないもの、及び増殖の極端に弱いものを一次選抜対象とした。一次選抜対象株を集めマスター・プレートを作成し、寒天平板最少培地と5μM DL-プロパルジルグリシン含有寒天平板最少培地にレプリカし、30°Cで2日間培養した。

【0024】寒天平板最少培地においては親株並みの増殖を示すが、5μM DL-プロパルジルグリシン含有寒天平板最少培地においては増殖のできないもの、及び増殖の極端に弱いものを二次選抜対象とした。二次選抜対象株を集めマスター・プレートを作成し、寒天平板最少培地と5μM DL-プロパルジルグリシン含有寒天平板最少培地にレプリカし、30°Cで3日間培養した。寒天平板最少培地においては親株並みの増殖を示すが、5μM DL-プロパルジルグリシン含有寒天平板最少培地においては増殖のできないもの、及び増殖の極端に弱いものを三次選抜対象とした。

【0025】次に三次選抜対象株をYPD培地にて30°Cで2日間振とう培養した後、無菌的に集菌及び滅菌水洗浄した菌体を3%カザミノ酸(Difco社製)含有液体最少培地(pH4.5)40mLに初発菌濃度 1.0×10^7 cells/mLになるように加え、20°Cで3日間静置培養した。この培養上清液中のトータル・ダイアセチル濃度を蒸留法(ジャーナル・オブ・ジ・アメリカン・ソサイアティ・オブ・ブリューイング・ケミスト(*Journal of the American Society of Brewing Chemists*), 36, 139 (1978))により測定した。ここで親株に比

べ、安定したトータル・ダイアセチル低蓄積性が認められたMY-2142株を得た。この変異株は工業技術院生命工学工業技術研究所に受託番号 F E R M P-18122として寄託してある。この時の結果を第1表に示す。

【0026】

【表1】

第1表 寄託時のトータル・ダイアセチル濃度 トータル・ダイアセチル濃度(ppm)	
酵母 記念1号	0.86
MY-2142株	0.32

【0027】

【表2】

第2表 DL-ブロバカルグリシンの増殖阻害とバリン添加による増殖阻害の結果 DL-ブロバカルグリシン濃度(μM) 0 5 10 20°C, 3日培養時の 2% ニー 酵母 バリン濃度(mmol) 濃度 記念7号 + + + MY-2142株 + - +					
DL-ブロバカルグリシン濃度(μM)	0	5	10		
20°C, 3日培養時の 2% ニー 酵母					
バリン濃度(mmol)	+ + +				
濃度 記念7号					
MY-2142株	+ - +				

【0028】またMY-2142株の5 μM DL-ブロバカルグリシン含有寒天平板最少培地における増殖阻害が、バリン添加によって解除されたことから、MY-2142株におけるプロバカルグリシン感受性がバリン・アナログとしてのプロバカルグリシンによるものであることが確認された。この結果を第2表に示す。

【0029】

【実施例2】MY-2142株及び親株である日本醸造協会清酒用7号酵母を用いて、第3表に示す仕込配合で清酒を製造した。高温糖化酒母を製造し、もろみの仕込温度を初添14°C、仲添10°C、留添8°Cとし、最高品温を14°Cとして発酵させた。このもろみにおける各アルコール度数帯における成分を第4表に示す。

【0030】

【表3】

第3表 育苗の仕込配合					
麹水(hL)	6.0	16.8	26.6	48.0	100
酒水(hL)	2.0	4.0	6.0	9.0	21
酵母(kg)	4.0	12.0	23.0	40.0	79
2水(L)	10.8	18.0	35.0	78.2	140

【0031】

【表4】

第4表 清酒成分の比較

アルコール (%)	記念7号			MY-2142株		
	トータル・ダイアセチル	日本酒度	アルコール (ppm)	トータル・ダイアセチル	日本酒度	アルコール (ppm)
6.8	0.18	-62	6.4	0.07	-60	
8.3	0.11	-45	6.3	0.08	-51	
10.0	0.15	-34	10.2	0.12	-42	
12.2	0.28	-19	12.1	0.10	-81	
14.2	0.21	-11	14.1	0.19	-25	
15.8	0.16	-2	15.8	0.15	-13	

【0032】本発明者らは市販低アルコール濃度清酒におけるトータル・ダイアセチル濃度の調査（宮城県工業技術センター研究報告、28, 74 (1997)）を行い、そ

の結果において低アルコール濃度清酒におけるダイアセチル臭に係るトータル・ダイアセチルの認知閾値を0.5 ppm、ダイアセチル臭の発生を予防するトータル・ダイアセチルの管理目標値を0.2 ppmと示した。MY-2142株は発酵期間を通してトータル・ダイアセチル濃度が0.20 ppm以下であり、安定したトータル・ダイアセチル低蓄積性が認められた。このことから、従来は困難であった発酵中のもろみを任意の時期に上槽することが可能となり、例えば第4表に示すように、多様な品質の低アルコール濃度清酒を従来の一般的な製造方法からも得られるようになつた。

【0033】

【実施例3】実施例2と同じ仕込配合で、仕込温度及び発酵温度を変えて清酒を製造した。高温糖化酒母を製造し、もろみの仕込温度を初添12°C、仲添8°C、留添6°Cとし、最高品温を13°Cとして発酵させた。このもろみにおける各アルコール度数帯における成分を第5表に示す。MY-2142株は発酵期間を通してトータル・ダイアセチル濃度が0.20 ppm以下であり、実施例2と同様に安定したトータル・ダイアセチル低蓄積性が認められた。このことから、従来は困難であった発酵中のもろみを任意の時期に上槽することが可能となり、例えば第5表に示すように、さらに多様な品質の低アルコール濃度清酒を従来の一般的な製造方法からも得られるようになった。

【0034】

【表5】

アルコール (%)	記念7号			MY-2142株		
	トータル・ダイアセチル (ppm)	日本酒度	アルコール (%)	トータル・ダイアセチル (ppm)	日本酒度	アルコール (%)
4.9	0.19	-66	4.9	0.19	-66	
6.7	0.22	-60	6.4	0.09	-58	
8.6	0.25	-50	8.8	0.09	-50	
11.0	0.48	-42	10.8	0.17	-40	
13.0	0.61	-22	13.6	0.19	-26	
15.7	0.55	-9	16.9	0.07	-14	

【0035】実施例2及び実施例3に示した発酵温度の異なるいずれのもろみにおいてもMY-2142株はトータル・ダイアセチル濃度を低く抑えたことから、MY-2142株が清酒製造におけるダイアセチル臭の発生防止に役立つのみでなく、低アルコール濃度清酒の製造管理を容易なものとし、また低アルコール濃度清酒の品質の多様化に貢献し得ることが確認された。

【0036】

【発明の効果】本発明の変異酵母を使用すれば、酒類製造においてダイアセチル臭の発生を容易に抑えることができる。

フロントページの続き

(51)Int.C1.⁷
C 1 2 R 1:865)
(C 1 2 N 1/02
C 1 2 R 1:865)

識別記号

F I
C 1 2 R 1:865

テーマコード(参考)

(72)発明者 橋本 建哉
宮城県仙台市泉区明通2丁目2番地 宮城
県産業技術総合センター内
(72)発明者 伊藤 謙治
宮城県仙台市青葉区上杉2丁目3番1号
宮城県酒造協同組合内

(72)発明者 菅澤 聰
宮城県塩釜市本町2番19号 株式会社佐浦
内
(72)発明者 関東 宣道
宮城県加美郡中新田町字西町88-1 株式
会社田中酒造店内

F ターム(参考) 4B065 AA80X AC14 AC20 BA18
BB12 BC03 CA09 CA42